定量计算萜类蚊虫驱避化合物与羧酸缔合作用对其驱避活性的影响

廖圣良[1,2], 宋 杰[3], 范国荣[1], 王 鹏[1], 王宗德[1,*], 陈尚钘[1], 姜志宽[4], 陈金珠[1]

(1. 江西农业大学林学院,南昌 330045; 2. 中国林业科学研究院林产化学工业研究所,南京 210042; 3. Department of Chemistry and Biochemistry, University of Michigan-Flint, Flint 485002, USA; 4. 南京军区疾病预防控制中心,南京 210042)

摘要:【目的】驱避剂是防止蚊虫叮咬的良好个人防护用品,但其作用机理一直未被解释清楚。本研究利用化学计算手段对4种重要的人体引诱物(乙酸、丙酸、丁酸和戊酸)与22个萜类驱避化合物的缔合作用以及该作用对驱避活性的影响进行了研究,以期为蚊虫驱避机理研究提供新思路。【方法】利用GAUSS View软件构建引诱化合物分子、驱避化合物分子以及二者可能形成的缔合体结构,再利用GAUSSIAN软件优化所有结构,并计算它们的能量和各类参数;借助AMPAC和CODESSA软件计算出所有结构的描述符;以萜类驱避化合物对白纹伊蚊 *Aedes albopictus* 校正驱避率的对数值(logCRR)为活性数据,利用CODESSA软件建立描述符与驱避活性的定量构效关系模型。【结果】4种羧酸与萜类驱避化合物相互缔合的缔合能量大多在18~20 kJ/mol之间,缔合距离和角度分别在2.0~2.5 Å和110°~180°内波动,符合氢键相互作用的特征。4个最优定量构效关系模型的 R^2 值均大于0.9,模型中的参数都包含缔合体的描述符,表明引诱物-驱避物缔合作用与校正驱避率的对数值显著相关。【结论】4种羧酸与萜类驱避化合物之间存在中等强度的氢键缔合作用,该缔合作用对驱避活性具有重要影响。研究初步揭示了引诱物-驱避物缔合作用的存在,也为从新的角度研究蚊虫驱避机理提供了前期研究基础。

关键词: 萜类; 蚊虫驱避剂; 羧酸; 分子缔合; 驱避活性; 定量构效关系

中图分类号: Q966 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2014)05-0547-10

Quantitative calculation of the influence of molecular association between terpenoid mosquito repellents and carboxylic acids on their repellency

LIAO Sheng-Liang[1,2], SONG Jie[3], FAN Guo-Rong[1], WANG Peng[1], WANG Zong-De[1,*], CHEN Shang-Xing[1], JIANG Zhi-Kuan[4], CHEN Jin-Zhu[1] (1. College of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Institute of Chemical Industry of Forestry Products, China Academy of Forestry, Nanjing 210042, China; 3. Department of Chemistry and Biochemistry, University of Michigan-Flint, Flint 485002, USA; 4. Center for Disease Control and Prevention of Nanjing Command, Nanjing 210042, China)

Abstract:【Aim】Mosquito repellents are a group of compounds which can protect human from mosquito biting. However, the repelling mechanisms are still unclear. In this study, theoretical calculations were applied to investigate the molecular association between four important human-derived attractants (acetic acid, propionic acid, butyric acid and pentanoic acid) and twenty-two terpenoid repellents, to find out the relationship between this kind of interaction and repellency, and so to clarify the repelling mechanisms from a new perspective.【Methods】Structures of attractants, repellents and attractant-repellent complexes were built and optimized by GAUSS View and GAUSSIAN, and association energy and geometrical parameters were obtained. Descriptors for model building were calculated by AMPAC and CODESSA. The quantitative structure-activity relationship (QSAR) models were built to analyze the relationship between the structural descriptors and the logarithm value of the corrected repelling time (logCRR) against *Aedes albopictus*.【Results】The association energy between four carboxylic acids and twenty-two terpenoid repellents is between 18 and 20 kJ/mol, and the association distance and angle

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项经费资助项目(201304602); 江西省主要学科学术和技术带头人培养计划(20133BCB22004); 江西省科技支撑计划项目(20132BBF60057)

作者简介: 廖圣良, 男, 1988年生, 江西南康人, 博士研究生, 主要从事植物源卫生杀虫化学品的研究, E-mail: alexliao24@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zongdewang@163.com

收稿日期 Received: 2014-01-02; 接受日期 Accepted: 2014-04-11

are fluctuating from 2.0 to 2.5 Å and from 110° to 180°, respectively, which exactly fit the characteristics of hydrogen bonding interaction. Four obtained QSAR models were statistically satisfying, and the R^2 values of any one of these four parametric models were above 0.9. Every model contained the descriptors generated from attractant-repellent complex, showing a significant correlation between attractant-repellent association and the logCRR. 【Conclusion】 Hydrogen bonding associations with moderate strength exist between four carboxylic acids and terpenoid repellents, and such kinds of associations deeply affect the repellency. This study provides a preliminary support to the existence of attractant-repellent association and sets up a foundation for the research of repelling mechanism from a new perspective.

Key words: Terpenoid; mosquito repellent; carboxylic acid; molecular association; repellency; quantitative structure-activity relationship (QSAR)

驱避剂所含的驱避化合物是一类由植物产生或人工合成的具有驱避昆虫作用的活性化学物质。蚊虫的叮咬不仅使人厌烦,同时还会传播多种严重的疾病。蚊虫驱避剂的使用由于可以有效减少蚊虫叮咬,从而在减少蚊媒疾病方面具有重要作用,使得驱避剂的开发凸显重要。随着驱避剂开发工作的深入,更为全面地了解驱避作用机理对于有目的性地开发高效驱避剂显得尤为关键。

经过数十年的研究,驱避作用机理研究已有了较大进展。Davis 和 Rebert(1972)发现蚊虫触角上存在对避蚊胺(DEET)敏感的嗅觉受体神经元。之后,Davis 和 Sokolove(1976)提出驱避剂 DEET 可以抑制位于埃及伊蚊 *Aedes egypti* 触角上对乳酸敏感的神经元。Ditzen 等(2008)通过行为和电生理实验表明,驱避剂 DEET 将冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 的嗅觉受体作为分子靶标,并且抑制了由气味引起的嗅觉受体 OR-OR83b 复合体的激活反应。与此同时,Syed 和 Leal(2008)发现在致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* 的触角上存在对 DEET 敏感的嗅觉神经元,蚊虫在感知 DEET 后,可以做出主动躲避行为。以上驱避作用机理研究大致可以总结为两类模式,一类为蚊虫感知驱避剂后主动躲避,另一类是驱避剂掩盖蚊虫对引诱物的感知。不过在驱避剂的使用过程中,还涉及人体引诱物的存在、驱避剂分散、引诱物与驱避剂共存等多个环节,因此驱避作用机理异常复杂,目前的研究结果尚不能全面阐释驱避剂的作用机理。

在以上机理获得广泛关注的同时,还存在着其他有待解决的疑问。首先,上述理论尚不能完全解释在使用驱避剂之后,其他人体主要引诱物(如:小分子羧酸)无法被蚊虫感知的原因;其次,Stanczyk 等(2010)曾通过实验表明即使在 DEET 存在的情况下,仍然有一小部分蚊虫会被人体气味所引诱,似乎表明还有其他补偿机制存在;其三,目前的研究主要集中于蚊虫的触角部位,对驱避剂使用部位的研究不足。另外,Dogan 等(1999)还通过行为实验得出了 DEET 对埃及伊蚊表现出引诱活性,而只有在乳酸同时存在时,才表现出对乳酸引诱活性的削弱作用。这一结果显示,在驱避过程中,驱避物与引诱物相互作用是一个非常重要的因素。

关于引诱物与驱避物相互作用(也称作缔合作用)的研究,目前已取得一些进展(廖圣良等, 2011, 2012; Song *et al.*, 2013)。涉及的人体引诱物包括氨、二氧化碳、乳酸等。不过,在人体分泌的众多引诱物中,还存在一系列小分子羧酸,它们对于引诱蚊虫也起到了重要作用。Carlson 等(1973)报道过 C_2-C_5 的羧酸与 CO_2 共存时对埃及伊蚊具有协同引诱作用。Bosch 等(2000)研究表明一定浓度的 C_1-C_3, C_5-C_8 和 C_{13}-C_{18} 的饱和脂肪酸可以显著增强乳酸对埃及伊蚊的引诱力,并且低浓度下的 C_1-C_3 饱和脂肪酸表现出更为出色的增强引诱效果。因此,深入研究这些小分子羧酸与驱避化合物的相互作用(缔合作用)对于驱避作用机理的揭示有着积极的意义。本研究选用了 4 个小分子羧酸(乙酸、丙酸、丁酸和戊酸)和萜类驱避化合物为研究对象,参照已有的研究方法(廖圣良等, 2012; Song *et al.*, 2013),即利用理论计算对 4 种羧酸与萜类驱避化合物的缔合作用进行计算,并利用定量构效关系研究来说明这种相互作用对驱避活性的影响。

1 材料和方法

1.1 化合物及其活性数据

本次研究的对象包括 4 个小分子羧酸(乙酸、丙酸、丁酸和戊酸)及 22 个萜类驱避化合物。22 个萜类驱避化合物均由天然精油松节油经化学衍生化

制备而得，这些化合物的合成和驱蚊活性测试参见王宗德等(2007)和 Wang 等(2008)。表 1 列出了这 22 个萜类化合物的结构和驱蚊活性(校正驱避率的对数值 logCRR)信息。

1.2　羧酸与萜类驱避化合物缔合的能量、距离和角度的计算

在 GAUSS View 4 软件中，分别构建引诱化合物分子、萜类驱避化合物分子以及引诱化合物与驱避化合物缔合作用时(引诱物-驱避物缔合体)的三维结构式。在构建缔合体的三维结构式时，所有可能参与相互作用的基团或片段都将在构建过程中加以考虑，包括：引诱化合物中的羟基、羰基，驱避化合物中的羰基、羟基和醚键。缔合体的构建过程通常是通过将引诱化合物围绕驱避化合物立体旋转，以寻找所有可能的构象。随后，在 GAUSSIAN 03W 软件中完成对这些结构的优化计算(Frisch *et al.*, 2004)，计算水平为 HF/6-31G(d)，优化最终得到的是能量最低的优势构象，同时还将获得缔合体缔合部位的各项几何参数。从 GAUSSIAN 03W 的输出文件中可以读取各个结构的能量，以及缔合体中包括缔合距离、缔合角度在内的多种几何参数。

引诱化合物与驱避化合物缔合作用的能量可以用以下公式计算获得：

$$E(\text{association}) = E(\text{A}) + E(\text{R}) - E(\text{AR})$$

其中，E(association)表示缔合作用能量，E(A)是引诱化合物的能量，E(R)为驱避化合物的能量，E(AR)代表缔合体的能量。

1.3　描述符的计算

以图形的形式来表示化合物的结构是研究人员常用的方式之一，然而在研究物质的化学结构与其活性的相互关系时，人们通常需要对化学结构进行数字化处理，即利用结构描述符来描述整个结构。描述符通常包括两类：分子描述符和局部描述符。分子描述符是利用软件对整个分子进行计算获得的描述符，具体的描述符类型包括 6 类：结构组成描述符、拓扑描述符、几何描述符、静电描述符、量子化学描述符和热力学描述符。局部描述符是就特定分子片段或结构区域进行计算获得的描述符，图 1 所示的是 4 种羧酸与 1 号化合物缔合作用时缔合区域的选择(红色虚线框内)，缔合区域内基团的选取由缔合距离和角度决定。局部描述符类型包括：结构组成描述符、拓扑描述符、几何描述符和量子化学描述符。所有描述符的计算是在 AMPAC 和 CODESSA 中完成。

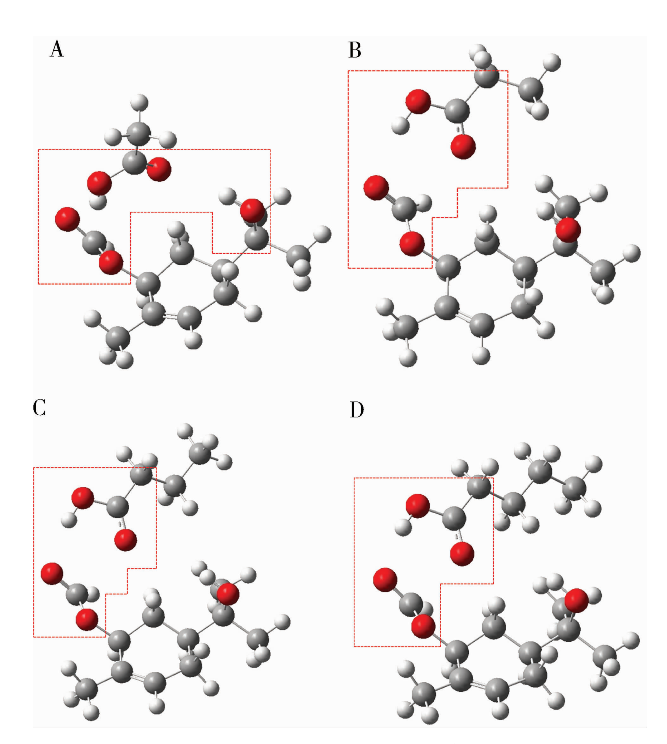


图 1　引诱化合物-驱避化合物缔合体及缔合区域

Fig. 1　Attractant-repellent complexes and association areas

A：乙酸-驱避化合物缔合体 Acetic acid-repellent complex B：丙酸-驱避化合物缔合体 Propionic acid-repellent complex；C：丁酸-驱避化合物缔合体 Butyric acid-repellent complex；D：戊酸-驱避化合物缔合体 Pentanoic acid-repellent complex. 红色虚线框表示 4 种羧酸与 1 号化合物缔合作用时的缔合区域。The fractions in the red boxes are the areas of molecular associations between four carboxylic acids and number one compound.

1.4　模型的构建和检验

利用 CODESSA 软件中的启发式回归方法，在已获得的描述符中筛选出与活性密切相关的描述符用于构建多元线性 QSAR 模型。模型构建和检验的步骤如下：

1)将 22 个化合物的活性值(logCRR)按降序排列；

2)在确定模型参数个数时，为避免“过参数化”的出现，将遵循规则：样本数和参数个数的关系应当符合：$n \geqslant 3(k+1)$(n 为样本数，k 为最终模型中的参数个数)；相关系数随参数个数的增加并无显著增大时($\Delta R^2 < 0.02$)，回归终止，此时获得的模型为最佳模型。

3)模型的稳定性和预测能力的检验由“留一法”交叉检验和三重内部检验完成。“留一法”交叉检验结果可由 CODESSA 软件直接获得。三重内部检验的步骤为：首先将 22 个化合物分成 3 组，将第 1，4，7，10……等分为 A 组，2，5，8……等分为 B

组,剩下的为 C 组。A, B 和 C 3 组进行两两组合,获得新的数据集 A + B, B + C 和 A + C,利用这 3 个新的数据集可以构建 3 个描述符个数与最佳模型相同的新的模型,此时使用的描述符都选自最佳模型的描述符;最后利用 A + B,B + C 和 A + C 集合构建的模型分别预测 C,A 和 B 中结构的活性,根据相关系数判断其预测能力。具体方法参见 Katritzky 等(2006, 2008)。

2 结果与分析

2.1 羧酸与萜类驱避化合物缔合的能量、距离与角度

4 种羧酸引诱化合物与驱避化合物缔合作用的能量,以及缔合体内的相互作用距离与角度分别列于表 1 ~5。分析羧酸和驱避化合物的结构特征,同时观察两者相互作用的形式可以发现,羧酸与驱避化合物之间主要以氢键的形式相互作用。由表 1 数据可知,4 种羧酸-驱避化合物缔合作用的能量平均值在 18 ~20 kJ/mol 范围之内。由于 4 种羧酸参与缔合作用的基团相同,因此缔合能量也差异不大。在这 4 种羧酸中,乙酸与驱避化合物缔合作用的平均能量略高,可能的原因是乙酸有较小的分子体积,在缔合过程中,可以更容易找到最低能量构象。另外,丙酸、丁酸和戊酸分别与 19 号结构缔合时,能量几乎为零,获得这一结果可能原因是 19 号结构自身具有相对较大的分子体积,在与丙酸、丁酸和戊酸缔合时,由于缔合位点附近的位阻原因,使得缔合作用较难发生。观察其他能量低于平均值的缔合情况,也大多与 19 号化合物的情形有类似之处。

表 1 驱避化合物的活性数据及其与羧酸缔合的能量

Table 1 Repellency of terpenoids and the association energy between terpenoids and carboxylic acids

编号 No.	结构式 Structural formula	活性数据 logCRR	引诱化合物与驱避化合物缔合作用的能量(kJ/mol) Association energy between attractants and repellents			
			乙酸-驱避物 Acetic acid-repellent	丙酸-驱避物 Propionic acid-repellent	丁酸-驱避物 Butyric acid-repellent	戊酸-驱避物 Pentanoic acid-repellent
1		1.954	19.6	16.4	20.3	20.2
2		1.908	20.6	17.3	20.1	20.7
3		1.862	15.4	33.8	24.2	33.6
4		1.860	23.9	24.9	25.2	25.2
5		1.857	21.1	19.7	19.6	19.6
6		1.839	25.7	18.0	17.9	17.9
7		1.809	24.5	24.3	22.7	22.7
8		1.803	21.1	20.3	20.0	20.1
9		1.794	18.8	17.3	17.9	17.9
10		1.784	21.7	16.9	16.8	16.8

续表 1　Table 1 continued

编号 No.	结构式 Structural formula	活性数据 logCRR	引诱化合物与驱避化合物缔合作用的能量(kJ/mol) Association energy between attractants and repellents			
			乙酸-驱避物 Acetic acid-repellent	丙酸-驱避物 Propionic acid-repellent	丁酸-驱避物 Butyric acid-repellent	戊酸-驱避物 Pentanoic acid-repellent
11	O, O, CH_3	1.767	15.9	15.7	15.7	15.7
12	$CH_2CH_2OCOC_2H_5$	1.754	16.8	15.8	15.5	15.6
13	O, O, H	1.749	17.3	17.1	16.9	17.0
14	OH	1.724	24.0	23.2	22.9	23.0
15	$CH_2CH_2OCOCH_3$	1.724	21.0	18.8	18.6	18.6
16	OMe	1.717	17.6	19.1	19.0	19.0
17	$OCOCH_3$	1.713	15.1	14.3	14.0	14.0
18	$OCOCH_3$	1.712	19.0	20.2	20.1	20.1
19	$OCOCH_3$	1.701	18.9	2.1	0.2	2.0
20	O, O, C_2H_5	1.607	18.1	17.0	16.7	16.8
21	O, O	1.588	18.1	18.7	18.6	18.6
22	O	1.577	17.8	17.8	17.7	17.7
均值 Mean			19.6	18.6	18.2	18.8

表 2 ~ 5 列出了 4 种羧酸与驱避化合物缔合作用的距离和角度，在缔合类型中，虚线表示缔合作用，虚线前面的基团是由羧酸提供，后面的基团是由驱避化合物提供。通常情况下，羧酸充当的是氢键缔合(O-H¨O)中氢的提供体，驱避化合物充当氢的受体。但是，如果驱避化合物中也存在羟基时，也可以作为氢的提供体与羧酸进行缔合。缔合距离的范围为 2.0 ~ 2.5 Å，而缔合角度的在 110° ~ 180°之间波动。

2.2　QSAR 模型

2.2.1　描述符的计算：经 AMPAC 和 CODESSA 软件计算，获得了大量描述符，单个模型可以使用的描述符数量达 1 200 多个。更大描述符集更有利于筛选获得真正与活性数据密切相关的描述符。

表 2 乙酸-驱避物缔合体的缔合距离和角度
Table 2 Association distances and angles of acetic acid-repellent complexes

编号 No.	缔合类型 Association type	距离(Å) Distance	角度(°) Angle	编号 No.	缔合类型 Association type	距离(Å) Distance	角度(°) Angle
1	-OH··· O = C <	2.255	149.053	12	-OH...O = C <	2.135	170.826
	-OH··· O <	2.400	154.427				
	> C = O··· HO-	2.452	162.281				
2	-OH...O = C <	2.157	177.519	13	-OH...O = C <	2.094	169.577
3	-OH...O <	2.081	146.406	14	-OH...O <	2.068	153.194
					> C = O...HO-	2.192	120.370
4	-OH...O <	2.099	156.219	15	-OH...O = C <	2.136	168.906
5	-OH...O = C <	2.219	144.918	16	-OH...O <	2.142	176.431
	-OH...O <	2.340	155.913				
	> C = O...HO-	2.398	162.921				
6	-OH...O <	2.119	152.811	17	-OH...O = C <	2.132	173.802
	> C = O...HO-	2.136	123.407				
7	-OH...O = C <	2.132	170.088	18	-OH...O = C <	2.149	165.426
8	-OH...O = C <	2.133	167.865	19	-OH...O = C <	2.131	172.146
9	-OH...O <	2.095	174.491	20	-OH...O = C <	2.116	173.620
10	-OH...O = C <	2.106	176.193	21	-OH...O = C <	2.103	175.228
11	-OH...O = C <	2.135	165.414	22	-OH...O <	2.155	167.071

在缔合类型中,虚线表示缔合作用,虚线前面的基团是由羧酸提供,后面的基团是由驱避化合物提供。表 3 ~ 5 同。As to the association type, dashed line means the association, groups in front of the dashed line are supplied by carboxylic acids and groups behind the dashed line are provided by repellents. The same for Tables 3 – 5.

表 3 丙酸-驱避物缔合体的缔合距离和角度
Table 3 Association distances and angles of propionic acid-repellent complexes

编号 No.	缔合类型 Association type	距离(Å) Distance	角度(°) Angle	编号 No.	缔合类型 Association type	距离(Å) Distance	角度(°) Angle
1	-OH...O = C <	2.157	164.477	12	-OH...O = C <	2.136	147.276
2	-OH...O = C <	2.300	146.079	13	-OH...O = C <	2.095	169.772
	-OH...O <	2.152	150.449				
3	-OH...O <	2.099	153.506	14	-OH...O = C <	2.067	153.814
	> C = O...HO-	2.158	121.991		> C = O...HO-	2.192	119.954
4	-OH...O <	2.091	167.614	15	-OH...O = C <	2.097	174.608
5	-OH...O = C <	2.146	168.145	16	-OH...O <	2.144	176.375
6	-OH...O <	2.100	153.498	17	-OH...O = O <	2.127	173.561
7	-OH...O = C <	2.277	148.200	18	-OH...O = C <	2.146	165.877
	-OH...O <	2.357	144.659				
8	-OH...O = C <	2.130	166.915	19	-OH...O = C <	2.127	166.088
9	-OH...O <	2.104	173.006	20	-OH...O = C <	2.142	175.719
10	-OH...O = C <	2.247	149.354	21	-OH...O = C <	2.102	175.278
	-OH...O <	2.418	143.740				
11	-OH...O = C <	2.130	165.824	22	-OH...O <	2.161	166.292

表 4 丁酸-驱避物缔合体的缔合距离和角度
Table 4 Association distances and angles of butyric acid-repellent complexes

编号 No.	缔合类型 Association type	距离(Å) Distance	角度(°) Angle	编号 No.	缔合类型 Association type	距离(Å) Distance	角度(°) Angle
1	-OH...O = C <	2.149	165.616	12	-OH...O = C <	2.117	158.855
2	-OH...O = C <	2.150	147.562	13	-OH...O = C <	2.095	169.584
	-OH...O <	2.311	148.684				
3	-OH...O <	2.161	127.013	14	-OH...O = C <	2.044	153.024
	> C = O...HO-	2.099	155.470		> C = O...HO-	2.178	118.477
4	-OH...O <	2.090	168.860	15	-OH...O = C <	2.097	174.432
5	-OH...O = C <	2.151	169.046	16	-OH...O <	2.143	176.334
6	-OH...O <	2.098	154.157	17	-OH...O = O <	2.126	170.456
7	-OH...O = C <	2.261	149.922	18	-OH...O = C <	2.147	165.364
	-OH...O <	2.386	143.842				
8	-OH...O = C <	2.103	170.506	19	-OH...O = C <	2.132	170.221
9	-OH...O <	2.097	173.611	20	-OH...O = C <	2.146	174.921
10	-OH...O = C <	2.241	150.568	21	-OH...O = C <	2.102	175.206
	-OH...O <	2.438	142.991				
11	-OH...O = C <	2.144	169.980	22	-OH...O <	2.158	166.031

表 5　戊酸-驱避物缔合体的缔合距离和角度

Table 5　Association distances and angles of pentanoic acid-repellent complexes

编号 No.	缔合类型 Association type	距离(Å) Distance	角度(°) Angle	编号 No.	缔合类型 Association type	距离(Å) Distance	角度(°) Angle
1	-OH. . . O = C <	2.148	166.168	12	-OH. . . O = C <	2.141	145.897
2	-OH. . . O = C <	2.147	147.534	13	-OH. . . O = C <	2.096	169.532
	-OH. . . O <	2.307	149.594				
3	-OH. . . O <	2.096	153.279	14	-OH. . . O = C <	2.046	153.431
	> C = O. . . HO-	2.159	121.102		> C = O. . . HO-	2.178	119.448
4	-OH. . . O <	2.091	168.840	15	-OH. . . O = C <	2.100	174.518
5	-OH. . . O = C <	2.150	169.449	16	-OH. . . O <	2.144	176.462
6	-OH. . . O <	2.097	154.205	17	-OH. . . O = O <	2.126	171.442
7	-OH. . . O = C <	2.266	149.551	18	-OH. . . O = C <	2.150	165.412
	-OH. . . O <	2.383	143.879				
8	-OH. . . O = C <	2.136	167.766	19	-OH. . . O = C <	2.131	169.420
9	-OH. . . O <	2.098	173.572	20	-OH. . . O = C <	2.143	173.305
10	-OH. . . O = C <	2.241	149.744	21	-OH. . . O = C <	2.102	175.235
	-OH. . . O <	2.437	143.266				
11	-OH. . . O = C <	2.135	167.632	22	-OH. . . O <	2.157	165.883

2.2.2　QSAR 模型的构建：利用启发式线性回归方法筛选并构建了 4 个最佳线性模型，乙酸-驱避化合物模型、丙酸-驱避化合物模型、丁酸驱避化合物模型和戊酸驱避化合物模型，模型的详细数据列于表 6。

2.2.3　模型的检验：利用“留一法”交叉检验和三重内部交叉检验对获得的 4 个模型进行检验。结果列于表 7。对比分析每个模型各自的相关系数平方 R^2、交叉检验相关系数平方 R^2_{cv}、训练集相关系数平方 R^2(fit) 平均值和测试集相关系数平方 R^2(pred) 平均值可知，获得的 4 个模型具有较好的稳定性和预测能力。对于乙酸-驱避化合物模型，虽然模型只含有 3 个描述符，但是模型检验的结果依然理想。图 2 所示的是利用表 6 中的 4 个模型获得的计算值与实验测试值的对比，可以看到，两者之间有很好的线性关系，相关系数平方都大于 0.9。综上所述，获得的 4 个模型结果理想。

3　讨论

本研究利用 GAUSSIAN 软件计算了 4 种羧酸与驱避化合物分子间的相互作用(缔合作用)，并借助 CODESSA 软件分析了这种缔合作用对驱避活性的影响。研究获得了 4 种羧酸与萜类驱避化合物相互缔合的缔合能量、距离和角度，并获得了 4 个最优定量构效关系模型。从模型中所包含的参数分析得出，引诱物-驱避物缔合作用对驱避活性具有重要影响。

一般而言，分子间氢键的键能在 10 ~ 65 kJ/mol 之间，氢键的距离根据构成氢键原子的不同而不同，氢键的键角应大于 90°，接近 180°(杨华等，2003)。本研究获得的羧酸与驱避化合物分子缔合作用的能量平均值在 18 ~ 20 kJ/mol 范围之内，而缔合作用的距离范围为 2.0 ~ 2.5Å，缔合角度的范围为 110° ~ 180°；参与缔合的基团类型主要为羟基、羰基等含氧基团，综上特征推断：羧酸与驱避化合物的缔合作用属于中等强度的氢键作用。

QSAR 模型中的描述符通常含有一些有价值的信息，从而有助于解释驱避作用机理。以下的描述符释义和性质分析主要参考自 CODESSA Pro 的使用参考手册(Katritzky *et al.*, 2002)。

在乙酸-驱避化合物模型中，第 1 个描述符：Min nucleoph. react. index for a C atom，为驱避化合物分子描述符。该描述符与最高占用分子轨道相关，是疏电子作用的指示描述符(Katritzky *et al.*, 2008)。它对驱避化合物的电子性能可能存在影响，改变这一参数的数值，可能会改变驱避化合物在分子间相互作用的贡献度，当驱避化合物与引诱物分子相互作用时，它可以指示驱避化合物接受孤对电子的能力。第 2 个描述符是与电子间排斥能有关，是一个量子化学描述符。第 3 个描述符又是一个与分子轨道相关的描述符，来自于缔合体。它意示了最高占用分子轨道与最低未占用分子轨道的能量差，是缔合体结构稳定性的一个指标。

在丙酸-驱避化合物模型中，第 1 个描述符和第 2 个描述符与乙酸-驱避化合物一样。第3个描述

表 6 定量构效关系模型

Table 6 QSAR models

描述符编号 No.	系数 Coefficient	系数误差 Coefficient error	t-检验 t-Test	描述符 Descriptors
乙酸-驱避物模型 Acetic acid-repellent model				
$R^2=0.9065$, $R^2_{cv}=0.8684$, $RMSE=0.0292$, $s^2=0.0010$, $F=58.15$, n = 22, $\log CRR_1=2.90-175.04A_1-0.78A_2-0.04A_3$				
A_0	2.90	0.13	21.85	Intercept
A_1	-175.04	27.19	-6.44	mol-Monomer-Min nucleoph. react. index for a C atom[a]
A_2	-0.78	0.04	-6.61	mol-Monomer-Min e-e repulsion for a H atom
A_3	-0.04	0.01	-3.04	mol-TerAA-HOMO-LUMO energy gap[b]
丙酸驱避物模型 Propionic acid-repellent model				
$R^2=0.9530$, $R^2_{cv}=0.9264$, $RMSE=0.0207$, $s^2=0.0006$, $F=86.16$, n = 22, $\log CRR_2=2.78-286.79B_1-0.26B_2+0.003B_3-0.32B_4$				
B_0	2.78	0.08	37.03	Intercept
B_1	-286.79	21.87	-13.11	mol-Monomer-Min nucleoph. react. index for a C atom
B_2	-0.26	0.03	-8.30	mol-Monomer-Min e-e repulsion for a H atom
B_3	0.003	0.0008	-5.84	mol-TerPrA-ZX Shadow[c]
B_4	-0.32	0.12	-2.75	f-TerPrA-ESP-FHASA Fractional HASA (HASA/TMSA)[d]
丁酸-驱避物模型 Butyric acid-repellent model				
$R^2=0.9285$, $R^2_{cv}=0.8802$, $RMSE=0.0255$, $s^2=0.0008$, $F=55.16$, n = 22, $\log CRR_3=0.78-207.99C_1-0.28C_2-0.002C_3-0.15C_4$				
C_0	0.78	0.86	0.91	Intercept
C_1	-207.99	27.55	-7.55	mol-Monomer-Min nucleoph. react. index for a C atom
C_2	-0.28	0.04	-7.60	mol-Monomer-Min e-e repulsion for a H atom
C_3	-0.002	0.0009	-2.39	mol-TerBA-ZX Shadow[e]
C_4	0.15	0.07	2.23	mol-TerBA-Max total interaction for a C-H bond
戊酸-驱避物模型 Pentanoic acid-repellent model				
$R^2=0.9509$, $R^2_{cv}=0.9213$, $RMSE=0.0211$, $s^2=0.0006$, $F=82.37$, n = 22, $\log CRR_3=2.24+2.87D_1-174.63D_2-0.83D_3+21.72D_4$				
C_0	2.24	0.13	17.55	Intercept
C_1	2.87	0.27	10.71	mol-Monomer-FHBCA Fractional HBCA (HBCA/TMSA)
C_2	-174.63	19.77	-8.83	mol-Monomer-Min nucleoph. react. index for a C atom
C_3	-0.83	0.18	-4.58	mol-Monomer-ZX Shadow / ZX Rectangle
C_4	21.72	5.27	4.12	mol-TerPeA-Moment of inertia B[f]

[a] mol-Monomer-是驱避化合物分子描述符的前缀 mol-Monomer- is a prefix which means descriptor calculated from repellent itself; [b] mol-TerAA-是乙酸-驱避物缔合体分子描述符的前缀 mol-TerAA- is a prefix which means descriptor calculated from acetic acid-repellent complex; [c] mol-TerPrA-是丙酸-驱避物缔合体分子描述符的前缀 mol-TerPrA- is a prefix which means descriptor calculated from propionic acid-repellent complex; [d] f-TerPrA-是丙酸-驱避物缔合体局部描述符的前缀 f-TerPrA- is a prefix which means descriptor calculated from fragment in the propionic acid-repellent complex; [e] mol-TerBA-是丁酸-驱避物缔合体分子描述符的前缀 mol-TerBA- is a prefix which means descriptor calculated from butyric acid-repellent complex; [f] mol-TerPeA-是戊酸-驱避物缔合体分子描述符的前缀 mol-TerPeA- is a prefix which means descriptor calculated from pentanoic acid-repellent complex. R^2: 相关系数平方 Squared correlation coefficient; R^2_{cv}: 交叉检验相关系数平方 Squared correlation coefficient of cross-validation; $RMSE$: 均方根误差 Root-mean-square error; s^2: 方差 Variance; F: Fisher 氏检验 Fisher's test; n: 样本数 Sample number.

符:ZX Shadow,是一个几何描述符,其含义是丙酸-驱避化合物缔合体的结构大小和几何形状。第 4 个描述符的含义为:缔合体中参与氢键缔合的氢原子电荷表面积占整个缔合区域表面积的比例。它是一个电荷加权部分表面积描述符,与表面电子分布和分子间相互作用密切相关。

在丁酸-驱避化合物模型中,前 3 个描述符都和丙酸-驱避化合物模型的一致。第 4 个描述符是缔合体碳氢键相互作用的最大数量。这一描述符可能与位阻作用对缔合体形成和稳定性的影响相关。

在戊酸-驱避化合物模型中,描述符的组成和排序略有变化。第一个描述符的含义与丙酸第 4 个描述符的含义类似,意为:氢键电荷表面积占整个缔合区域表面积的比例。也是一个电荷加权部分表面积

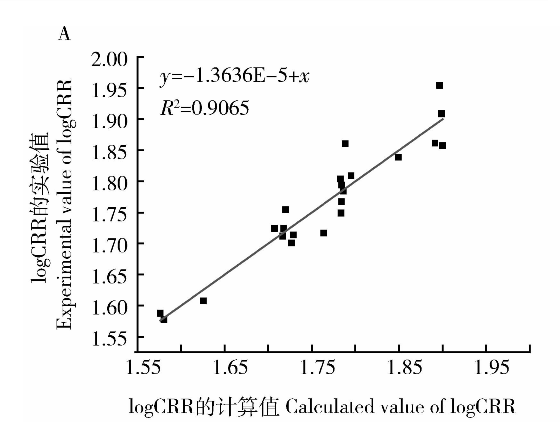
表 7　模型的检验

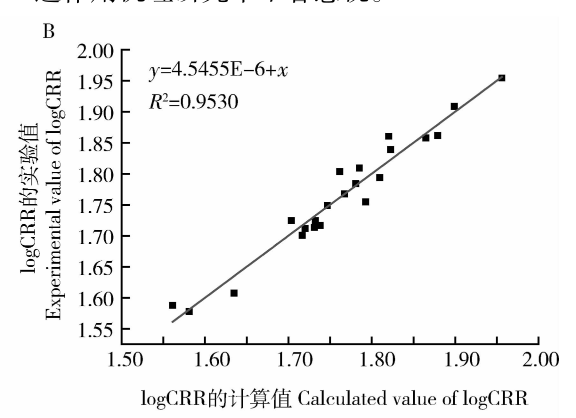
Table 7　Validation of QSAR models

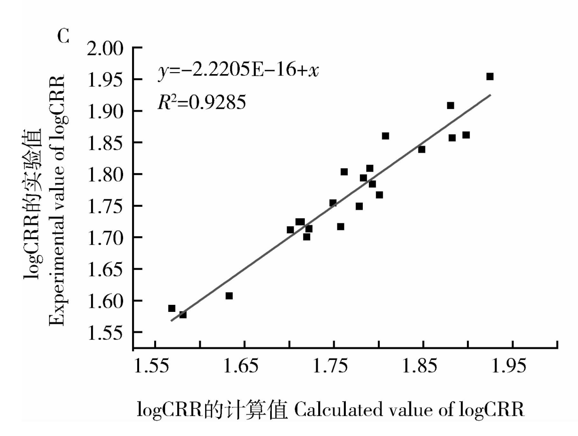
模型 Model	R^2	R^2_{cv}	训练集 Training set	R^2_{fit} (training set)	测试集 Test set	R^2_{pred} (test set)
乙酸-驱避物 Acetic acid-repellent	0.9065	0.8684	AB	0.8985	C	0.9573
			AC	0.9554	B	0.8769
			BC	0.8935	A	0.9444
			均值 Mean	0.9158		0.9263
丙酸-驱避物 Propionic acid-repellent	0.9530	0.9264	AB	0.8394	C	0.9351
			AC	0.9144	B	0.8369
			BC	0.9567	A	0.9521
			均值 Mean	0.9035		0.9080
丁酸-驱避物 Butyric acid-repellent	0.9285	0.8802	AB	0.8978	C	0.9441
			AC	0.9570	B	0.8827
			BC	0.9480	A	0.7554
			均值 Mean	0.9343		0.8607
戊酸-驱避物 Pentanoic acid-repellent	0.9509	0.9213	AB	0.8965	C	0.9389
			AC	0.8458	B	0.8151
			BC	0.9737	A	0.8703
			均值 Mean	0.9053		0.8735

描述符，其含义为驱避化合物分子中参与缔合的基团表面电子分布情况。第 2 个和第 3 个描述符的含义与前几个模型相同。第 4 个描述符为缔合体的几何参数描述符，表示缔合体分子质量的分布情况，由于缔合体是由引诱化合物和驱避化合物两种分子组成，因此，缔合体的质量分布情况意示两者的相对位置，是缔合方式和缔合体几何构型的一个重要指示参数。

此次研究与之前的研究相比较（廖圣良等，2012；Song *et al.*，2013），得到了一些相同的结论，即缔合体表面的电子分布和特定的几何构象对于引诱化合物与驱避化合物缔合作用具有重要影响。在上述的这些描述符中，既有来自于驱避化合物分子本身的描述符，也有来自缔合体及缔合区域的描述符。在得到的 4 个模型中，每个模型都含有来自于缔合体及缔合区域的描述符，这表明缔合体的结构与驱避活性密切相关。因此，引诱化合物与驱避化合物的缔合作用是影响驱避作用的一个重要因素，在驱避作用机理研究中不容忽视。







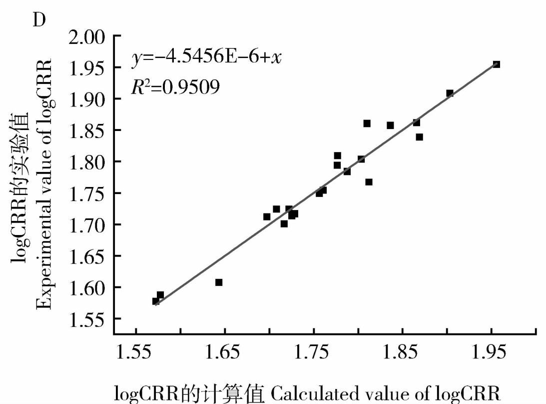


图 2　模型计算的校正驱避率对数值与实验值的线性关系

Fig. 2　Linear relationship between calculated logCRR and experimental logCRR

A：乙酸-驱避化合物模型 Acetic acid-repellent model；B：丙酸-驱避化合物模型 Propionic acid-repellent model；C：丁酸-驱避化合物模型 Butyric acid-repellent model；D：戊酸-驱避化合物模型 Pentanoic acid-repellent model.

综上所述，本文利用理论计算的方法研究了4种人体引诱化合物与22个萜类驱避化合物的分子间相互作用（缔合作用），以及这种相互作用对驱避活性的影响。结果显示这种相互作用为分子间氢键相互作用，并对驱避活性具有影响。未来，更多的研究有待结合多种实验手段（理论计算、分子生物学、触角电生理、嗅觉行为学等）来系统研究蚊虫、人体、驱避化合物和引诱物之间的内在相互作用。

致谢 感谢江西省竹子种质资源与利用重点实验室、国家林业局樟树工程技术研究中心分别提供了蚊虫饲养和化合物分析测定方面的条件。

参考文献（References）

Bosch OJ, Geier M, Boeckh J, 2000. Contribution of fatty acids to olfactory host finding of female *Aedes aegypti*. *Chemical Senses*, 25(3): 323 – 330.

Carlson DA, Smith N, Gouck HK, Godwin DR, 1973. Yellow fever mosquitoes: compounds related to lactic acid that attract females. *Journal of Economic Entomology*, 66(2): 329 – 331.

Davis EE, Rebert CS, 1972. Elements of olfactory receptor coding in the yellow fever mosquito. *Journal of Economic Entomology*, 65(4): 1058 – 1061.

Davis EE, Sokolove PG, 1976. Lactic acid-sensitive receptors on the antennae of the mosquito, *Aedes aegypti*. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural and Behavioral Physiology*, 105(1): 43 – 54.

Ditzen M, Pellegrino M, Vosshall LB, 2008. Insect odorant receptors are molecular targets of the insect repellent DEET. *Science*, 319(5871): 1838 – 1842.

Dogan EB, Ayres JW, Rossignol PA, 1999. Behavioural mode of action of deet: inhibition of lactic acid attraction. *Medical and Veterinary Entomology*, 13(1): 97 – 100.

Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, *et al.*, 2004. Gaussian 03, Revision D.01. Gaussian Inc., Wallingford, CT.

Katritzky AR, Dobchev DA, Tulp I, Kaerlson M, Carlson DA, 2008. QSAR study of mosquito repellents using Codessa Pro. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16(8): 2306 – 2311.

Katritzky AR, Petrukhin R, Yang H, Karelson M, 2002. Codessa Pro User's Manual. Semichem, Inc., Shawnee. 10 – 73.

Katritzky AR, Slavov SH, Dobchev DA, Kaerlson M, 2008. QSAR modeling of the antifungal activity against *Candida albicans* for a diverse set of organic compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(14): 7055 – 7069.

Liao SL, Jiang ZK, Song J, Wang ZD, Chen JZ, Zhang LH, Han ZJ, 2012. Quantitative calculation of the repellency affection of the interaction between repellents and ammonia. *Chinese Journal of Hygienic Insecticides & Equipments*, 18(2): 106 – 110. [廖圣良，姜志宽，宋杰，王宗德，陈金珠，张亮华，韩招久，2012. 氨分子与驱避剂缔合对驱避活性影响的定量计算. 中华卫生杀虫药械，18(2): 106 – 110]

Liao SL, Song J, Wang ZD, Chen JZ, Chen SX, Fan GR, Jiang ZK, Han ZJ, 2012. Quantitative calculation of the influence of the molecular association between terpenoid repellents and CO_2 on their repellency against mosquitoes. *Acta Entomologica Sinica*, 55(9): 1054 – 1061. [廖圣良，宋杰，王宗德，陈金珠，陈尚钘，范国荣，姜志宽，韩招久，2012. 定量计算萜类驱避化合物与二氧化碳缔合对驱避活性的影响. 昆虫学报，55(9): 1054 – 1061]

Song J, Wang ZD, Findlater A, Han ZJ, Jiang ZK, Chen JZ, Zheng WQ, Hyde S, 2013. Terpenoid mosquito repellents: a combined DFT and QSAR study. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(5): 1245 – 1248.

Stanczyk NM, Brookfield JFY, Ignell R, Logan JG, Field LM, 2010. Behavioral insensitivity to DEET in *Aedes aegypti* is a genetically determined trait residing in changes in sensillum function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(19): 8575 – 8580.

Syed Z, Leal WS, 2008. Mosquitoes smell and avoid the insect repellent DEET. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(36): 13598 – 13603.

Wang ZD, Chen JZ, Song ZQ, Jiang ZK, Han ZJ, Chen C, 2007. Studies on synthesis and repellent activity of 8-hydroxylcarveol and its derivatives. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 27(4): 1 – 6. [王宗德，陈金珠，宋湛谦，姜志宽，韩招久，陈超，2007. 8-羟基别二氢葛缕醇及其衍生物的合成与驱避活性研究. 林产化学与工业，27(4): 1 – 6]

Wang ZD, Song J, Chen JZ, Song ZQ, Shang SB, Jiang ZK, Han ZJ, 2008. QSAR study of mosquito repellents from terpenoid with a six-member-ring. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(9): 2854 – 2859.

Yang H, Wang B, Zhang NW, 2003. The research progress on hydrogen bonding. *Journal of Mudanjiang Normal University*, 28(2): 33 – 35. [杨华，王兵，张乃武，2003. 氢键的研究进展. 牡丹江师范学报，28(2): 33 – 35]

（责任编辑：赵利辉）